



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑯ Übersetzung der
europäischen Patentschrift

⑯ Int. Cl. 7:
A 21 D 8/04

⑯ EP 0 659 049 B 1

⑯ DE 693 30 066 T 2

⑯ Deutsches Aktenzeichen: 693 30 066.3
 ⑯ PCT-Aktenzeichen: PCT/DK93/00274
 ⑯ Europäisches Aktenzeichen: 93 919 029.4
 ⑯ PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 94/04035
 ⑯ PCT-Anmeldetag: 23. 8. 1993
 ⑯ Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: 3. 3. 1994
 ⑯ Erstveröffentlichung durch das EPA: 28. 6. 1995
 ⑯ Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: 28. 3. 2001
 ⑯ Veröffentlichungstag im Patentblatt: 25. 10. 2001

⑯ Unionspriorität:
104592 21. 08. 1992 DK
 ⑯ Patentinhaber:
Novozymes A/S, Bagsvaerd, DK
 ⑯ Vertreter:
Patent- und Rechtsanwälte Bardehle, Pagenberg,
Dost, Altenburg, Geissler, Isenbruck, 81679
München
 ⑯ Benannte Vertragstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LI, NL, PT, SE

⑯ Erfinder:
OLESEN, Tine, DK-3670 Vekso, DK; QI SI, Joan,
DK-2942 Skodsborg, DK; DONELYAN, Vahan,
I-20149 Milan, IT

⑯ VERWENDUNG VON LIPASE BEIM BACKEN

BEST AVAILABLE COPY

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 693 30 066 T 2

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Teigs
5 und/oder eines aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses durch Verwendung
von Enzymen. Weiterhin betrifft die Erfindung einen Teig und eine Vormischung
für einen Teig, die diese Enzyme umfassen. Schließlich betrifft die Erfindung die
Verwendung einer Enzymzubereitung in einem Verfahren zur Herstellung eines
Teigs und/oder eines aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses.

10

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Es ist bekannt, bei dem Prozeß der Brotherstellung brotverbessernde Zusätze
und/oder Teigzusatzstoffe dem Brotteig zuzusetzen, deren Wirkung u. a. zu ver-
15 besserter Textur, Volumen, Geschmack und Frische des Brotes sowie einer ver-
besserten Verarbeitungsfähigkeit des Teigs führt.

In den letzten Jahren ist festgestellt worden, daß Enzyme als Teigzusatzstoffe
und/oder teigverbessernde Mittel nützlich sind, insbesondere Enzyme wie Amyla-
20 sen und Proteasen, die auf Bestandteile wirken, die in großen Mengen in dem Teig
vorkommen.

Die Lipase (EC 3.1.1.3) ist ein Enzym, das zu den Glycerinesterhydrolasen ge-
hört, die die Hydrolyse von Esterbindungen in Triglyceriden katalysieren. Die
25 Verwendung von Lipasen bei der Herstellung von Brot wurde für das Glätten
("Smoothening") und dadurch das Verbessern der Textur des Brotes vorgeschla-
gen, aber es wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß, wenn eine Lipase allein
verwendet wird, andere Eigenschaften des Brotes, wie das Brotvolumen, die E-
lastizität der Krume und das Gefühl im Mund verschlechtert werden (JP-A 62-

285749). Tatsächlich ist die Feststellung gemacht worden, daß die Verwendung einer Lipase in der Backindustrie unerwünscht ist (Gams, 1976).

JP-A 62-285749 offenbart ein Verfahren zur Herstellung von Brot, bei dem Lipase dem Teig mit Vitalgluten und Lecithin zugesetzt wird. Es wird festgestellt, daß durch das Zusetzen von Vitalgluten und Lecithin die unerwünschten Wirkungen von Lipase vermieden oder verringert werden.

EP 468 731 offenbart die Verwendung eines brotverbessernden Mittels, das das Enzym Glucoseoxidase umfaßt, wahlweise in Kombination mit anderen Enzymen wie Hydrolasen. Eine Lipase wird als ein Beispiel einer derartigen Hydrolase erwähnt.

In beiden der vorgenannten Druckschriften werden Backversuche beschrieben, bei denen Lipase allein zugesetzt wird ohne Zusetzen eines beliebigen der anderen verbessernden Mitteln, die in diesen Druckschriften beschrieben werden. Diese Backversuche dienen dem Zweck der Veranschaulichung der unzufriedenstellenden Ergebnisse, die durch die Verwendung von Lipase allein erhalten wurden im Vergleich zu den Ergebnissen, die erhalten wurden, wenn Lipase in Beimischung mit den anderen verbessernden Mitteln verwendet wird, die in diesen Druckschriften beschrieben werden. In EP 468 731 ist die für diese Versuche verwendete Lipase nicht näher spezifiziert worden, während festgestellt wird, daß die in JP-A 62-285749 verwendete Lipase die Talipase ist, offensichtlich eine Lipase, die durch eine Spezies der Gattung *Rhizopus* erzeugt wird. Bei denen in der JP-A 62-285749 offenbarten Backversuchen ist die Lipase in einer Menge verwendet worden, die mindestens 2240 Lipaseeinheiten (Lipase Units; LU)/kg Mehl entspricht.

In US-Patent Nr. 3,368,903, Johnson *et al.*, werden Verfahren zum Verzögern der Tendenz von Brot, altbacken zu werden, offenbart, die das Zusetzen einer Lipase-Zubereitung zu einem Brotteiggemisch umfassen. Die verwendete Lipase wird

von einer Pflanze erhalten oder ist pilzlicher Herkunft, nämlich von einem Stamm von *Candida cylindracea*.

JP-A-4,158,731, Fukuhara *et al.*, offenbart ein verbesserndes Mittel für aufgegangenen, gefrorenen Teig, der eine Lipase nicht angegebener Herkunft enthält, und ein Verfahren zur Herstellung unter Verwendung von aufgegangenem, gefrorenen Teig, der durch das Zusetzen der Lipase zu den Brotbestandteilen gekennzeichnet ist.

10 OFFENBARUNG DER ERFINDUNG

Es war deshalb überraschend zu finden, daß die Verwendung von Lipase in Kombination mit einer α -Amylase und/oder einer Xylanase, wie in den Patentansprüchen definiert, unter geeigneten Bedingungen zu wesentlichen Verbesserungen des Teigs sowie der aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisse führen kann. Insbesondere war es überraschend festzustellen, daß einige der Eigenschaften, von denen in einigen der vorgenannten Druckschriften gesagt wurde, daß sie durch die Verwendung der Lipase verschlechtert werden (wie das Brotvolumen) tatsächlich verbessert werden konnten. Die vorliegende Erfindung beruht auf dieser Beobachtung.

Demgemäß betrifft ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Teig- und/oder eines aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses durch Zusetzen von Enzymen, wie in den Patentansprüchen definiert, zu dem Teig und/oder zu einem beliebigen Bestandteil des Teigs und/oder zu einem beliebigen Gemisch der Teigbestandteile. Die Lipaseeinheiten werden in dem nachfolgenden Abschnitt Material und Methoden weiter definiert.

Es ist festgestellt worden, daß die Lipase auch eine vorteilhafte Wirkung bei Teig ohne irgendwelches zugesetztes Fett oder Teig, der nur geringe Mengen an zugesetztem Fett enthält, ausübt. Dementsprechend kann der Teig frei von Fett sein.

Soweit den vorliegenden Erfindern bewußt ist, ist die Verwendung von Lipase bei der Herstellung von Teig und/oder Backerzeugnissen, ohne oder nur geringe Mengen an zugesetztem Fett enthaltend, für die Herstellung von kalorienarmen 5 Teig- und/oder Backerzeugnissen reizvoll.

In dem vorliegenden Zusammenhang ist beabsichtigt, daß der Begriff "Fett" ein beliebiges Fett oder Lipid bedeutet, daß bei der Herstellung von Teig- und Backerzeugnissen nützlich ist. Fette, die üblicherweise für diesen Zweck verwendet werden, schließen Butter, Margarine, Backfett, Öl und dergleichen ein und können pflanzlicher oder tierischer Herkunft sein oder gemischt pflanzlicher und tierischer Herkunft. Es ist beabsichtigt, daß der Begriff "fettfrei", wie er hierin verwendet wird, bedeutet, daß der Teig im wesentlichen frei von zugesetztem Fett ist.

15 In einer besonderen Ausführungsform umfaßt der Teig eine Menge an zugesetztem Fett, die höchstens 3,5 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten, die in dem Teig vorliegen, bildet.

20 Es ist beabsichtigt, daß der Begriff "verbesserte Eigenschaften", wie er in bezug auf die Wirkungen verwendet wird, die mit erfindungsgemäßem Teig und/oder aus dem Teig hergestellten Backerzeugnissen erhalten werden, auf umfassende Weise verstanden wird, d. h. daß er jede beliebige Eigenschaft umfaßt, die durch die Wirkung von Lipase (im Vergleich zu Eigenschaften, die erhalten werden, 25 wenn keine Lipase zugesetzt worden ist) verbessert werden kann.

Es ist insbesondere festgestellt worden, daß das Zusetzen von Lipase, wie es in den Ansprüchen definiert ist, zu einem erhöhten Volumen und einer verbesserten Weichheit des Backerzeugnisses führt. Auch wird eine verbesserte Wirkung gegen das Altbackenwerden erhalten, d. h. die Kruste des Backerzeugnisses wird weicher, wenn Lipase zugesetzt wird. Darüber hinaus wird die Farbe der Kruste 30

des Backerzeugnisses weißer, wenn Lipase dem Teig zugesetzt wird. Außerdem ist festgestellt worden, daß Teig, der mittels eines erfindungsgemäßen Verfahrens hergestellt wurde, eine verbesserte Konsistenz erhält, d. h. eine erhöhte Weichheit und Elastizität, was zu einem leichter verarbeitbaren Teig führt. Die Verarbeitungsfähigkeit des Teigs ist ein kritischer Parameter, beispielsweise bei der industriellen Herstellung von Teig und Backerzeugnissen.

5 In weiteren Aspekten betrifft der vorliegenden Erfindung einen Teig oder eine Vormischung für einen Teig, der/die eine Lipase und eine α -Amylase und/oder 10 Xylanase umfaßt, wie in den Ansprüchen definiert.

15 In einem letzten Aspekt betrifft die Erfindung die Verwendung einer Enzymzubereitung in einem Verfahren zur Herstellung eines Teigs und/oder aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses, wie in den Ansprüchen definiert.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Der Haupttriglyceridgehalt bei einem herkömmlichen Brotteig, der kein zugesetztes Fett enthält, wird in dem Mehlbestandteil bzw. den Mehlbestandteilen des 20 Teiges gefunden und bildet üblicherweise ungefähr 1-3 Gew.-% des Teigs. Es wird vorausgesehen, daß das Lipaseenzym, das gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet wird, in der Lage ist, diese niedrigen Mengen an Triglyceriden zu erreichen und auf diese zu wirken, sogar obwohl freie Wassermoleküle praktisch in dem Teig fehlen.

25 Es ist von Weegels und Hamer (1992), Bekes *et al.* (1992) und Bushyk *et al.* (1990) berichtet worden, daß Lipide, die in dem Teig vorliegen, mit spezifischen Glutenkomplexproteinen unter Bildung von Lipid-Gluten-Aggregaten während der Teigherstellung interagieren.

30

Ohne an irgendeine Theorie gebunden zu sein, wird gegenwärtig davon ausgegangen, daß die gemäß der vorliegenden Erfindung verwendete Lipase die Interaktion zwischen Lipid und Glutenprotein, über die in den vorgenannten zitierten Druckschriften berichtet wurde, modifiziert, und dadurch die Eigenschaften des Teigs und der Backerzeugnisse verbessert. Obwohl die Natur der Wechselwirkung zwischen dem Lipid und dem Gluten unbekannt ist, wird in Erwägung gezogen, daß die Lipase eine mögliche Lipid-Gluten-Überaggregation in dem Teig herabsetzt durch Ausüben eines begrenzten Angriffs auf den Lipidbestandteil der Aggregate, ohne jedoch einen völligen Abbau der Aggregate herbeizuführen. Es wird angenommen, daß diese Modifikation der Lipid-Gluten-Aggregate zu einem verbesserten Glutenkomplex führt und somit zu einer verbesserten Teigkonsistenz, einem vergrößerten Brotvolumen und einer verbesserten Krustenstruktur im Vergleich zu den Eigenschaften, die erhalten werden, wenn keine Lipase zugesetzt wird.

Es wird weiterhin davon ausgegangen, daß die Lipase einen "in situ"-Emulgator bildet, der Mono- und Diglyceride in dem Teig umfaßt, wobei dieser Emulgator für die verbesserte Wirkung gegen das Altbackenwerden verantwortlich ist, die gemäß der vorliegenden Erfindung beobachtet wurde.

Für die Herstellung eines Teigs und/oder von Backerzeugnissen, die nur geringe Menge an zugesetztem Fett umfassen, ist es bevorzugt, daß die Menge an zugesetztem Fett höchstens 3 Gew.-% der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten des Teigs bildet, vorzugsweise höchstens 2,8 Gew.-% der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten, wie höchstens 2,5 Gew.-%, stärker bevorzugt höchstens 2,0 Gew.-% der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten des Teigs, noch stärker bevorzugt höchstens 1,5 Gew.-%, sogar noch stärker bevorzugt höchstens 1 Gew.-% und am stärksten bevorzugt höchstens 0,5 Gew.-% der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten des Teigs.

Die in dem erfindungsgemäßen Verfahren zu verwendende mikrobielle Lipase ist eine Lipase, die von einem Stamm von *Humicola* spp. stammt, insbesondere von einem Stamm von *H. lanuginosa*. Ein Beispiel einer derartigen Lipase ist die in EP 305 216 beschriebene Lipase von *H. lanuginosa*.

5

Die Lipase kann von dem fraglichen Mikroorganismus durch Verwendung jeder geeigneten Technik erhalten werden. Beispielsweise kann eine Lipase-Zubereitung durch Fermentation eines Mikroorganismus und anschließende Isolation durch ein im Stand der Technik bekanntes Verfahren erhalten werden, aber 10 stärker bevorzugt durch die Verwendung von rekombinanten DNA-Techniken, wie sie im Stand der Technik bekannt sind. Ein derartiges Verfahren umfaßt normalerweise die Kultivierung einer Wirtszelle, die mit einem rekombinanten DNA-Vektor transformiert wurde, der in der Lage ist, eine DNA-Sequenz, die die fragliche Lipase kodiert, zu exprimieren und zu tragen, in einem Kulturmedium unter 15 Bedingungen, die die Expression des Enzyms und das Wiedergewinnen des Enzyms aus der Kultur erlauben.

Die zu verwendende, die Lipase kodierende DNA-Sequenz kann von beliebiger Herkunft sein, z. B. eine cDNA-Sequenz, eine genomische Sequenz, eine synthetische Sequenz oder eine beliebige Kombination dieser. Beispiele geeigneter Methoden zur Herstellung mikrobieller Lipasen sind z. B. in EP 0 238 023 und EP 0 305 216 beschrieben.

Üblicherweise wird die in der vorliegenden Erfindung zu verwendende Enzymzubereitung in einer Menge zugesetzt, die in dem Teig zu einer Lipase-Aktivität in einem Bereich von 10-50.000 LU/kg Mehl führt. Es wird angenommen, daß eine Lipase-Aktivität unter 10 LU/kg Mehl keine wesentliche Wirkung bereitstellt, während man annimmt, daß eine Lipase-Aktivität über 100.000 LU zu einer Übermodifikation des Teigs führt, z. B. zu einem Teig, der zu klebrig ist.

30

Es ist bevorzugt, daß die Lipase-Zubereitung in einer Menge zugesetzt wird, die in dem Teig zu einer Lipase-Aktivität in dem Bereich von 10-3000 LU/kg Mehl, 10-2500 LU/kg Mehl, 10-2100 LU/kg Mehl oder 10-2000 LU/kg Mehl führt. Es werden sehr vorteilhafte Wirkungen auf den Teig und das Brot erhalten, wenn 5 eine Lipase-Zubereitung in einer Menge verwendet wird, die einer Lipase-Aktivität in dem Bereich von 250-2100 LU/kg Mehl entspricht, wie 500-2100 LU/kg Mehl oder 250-1500 LU/kg Mehl.

10 Die in der vorliegenden Erfindung zu verwendende Enzymzubereitung kann vorteilhafterweise in Kombination mit anderen Teigzusatzstoffen oder brotverbessernden Mitteln verwendet werden.

15 Die in dem erfindungsgemäßen Verfahren zu verwendende Enzymzubereitung kann weiterhin eine Cellulase, eine Glucoseoxidase (nützlich für das Verfestigen des Teigs), z. B. eine pilzliche Glucoseoxidase, wie Novozym 358[®] (eine Glucoseoxidase von *A. niger*), eine Protease (nützlich für das Schwächen von Gluten, insbesondere wenn Hartweizenmehl verwendet wird), z. B. Neutraser[®], eine Peroxidase (nützlich für das Verbessern der Teigkonsistenz), eine Peptidase und/oder eine Maltogenase umfassen. Somit können jede beliebigen anderen Bestandteile, 20 die in der Enzymzubereitung vorliegen, von verschiedener oder gleicher Herkunft wie die Lipase sein. Alternativ dazu können ein oder mehrere zusätzliche Enzymaktivitäten getrennt von der Enzymzubereitung zugesetzt werden, die die Lipase umfaßt. Die anderen Enzyme sind vorzugsweise mikrobieller Herkunft und können durch herkömmliche im Stand der Technik verwendete Verfahren, wie vor- 25 stehend erwähnt, erhalten werden.

Ein allgemein beobachteter Nachteil bei Verwendung einer Pentosanase ist, daß der Teig eine unerwünschte Klebrigkeiheit erhält. Es ist überraschenderweise festgestellt worden, daß die Lipase diese Klebrigkeiheit herabsetzen oder vermeiden kann. 30 Demgemäß wird in einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens die Lipase vorteilhafterweise in Kombination mit einer Xylanase verwendet. Die

Xylanase ist vorzugsweise von mikrobieller Herkunft, z. B. abgeleitet aus einem Bakterium oder Pilz, wie einem Stamm von *Aspergillus*, insbesondere von *A. a-culeatus*, *A. niger* (s. WO 91/19782), *A. awamori* (WO 91/18977) oder *A. tubi-gensis* (WO 92/01793), von einem Stamm von *Trichoderma*, z. B. *T. reesei*, oder 5 von einem Stamm von *Humicola*, z. B. *H. insolens* (WO 92/17573). Pentopan® und Novozym® (beide von Novo Nordisk A/S) sind im Handel erhältliche Xylanase-Zubereitungen, die durch *Trichoderma reesei* erzeugt werden.

In einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird die 10 Lipase vorteilhafterweise in Kombination mit einer α -Amylase verwendet. Die α -Amylase ist vorzugsweise von mikrobieller Herkunft, z. B. stammt sie aus einem Bakterium oder Pilz, wie einem Stamm von *Aspergillus*, insbesondere von *A. niger* oder *A. oryzae* oder einem Stamm von *Bacillus*. Im Handel erhältliche α -Amylasen, die für den vorliegenden Zweck geeignet sind, sind Fungamyl® (eine 15 α -Amylase von *A. oryzae*), Novamyl® (eine α -Amylase von *B. stearothermophilus*, s. EP 120 693) und BAN® (eine α -Amylase von *B. amyloliquefaciens*), die alle von Novo Nordisk A/S erhältlich sind.

Die Lipase wird in Kombination mit einem anderen Enzym verwendet, wobei die 20 Dosierung der Lipase 10-50.000 LU/kg Mehl beträgt. Die anderen Enzym-Aktivitäten können gemäß anerkannter Backpraxis dosiert werden. In dieser Hinsicht ist eine bevorzugte Dosierung von Xylanase 5-5000 FXU/kg Mehl und eine bevorzugte Dosierung von Amylase 5-500 FAU/kg Mehl.

25 Die Xylanase-Aktivität FXU ("Farbe-Xylanase-Units"; Farbe-Xylanase-Einheiten) und die α -Amylase-Aktivität FAU können durch das Verfahren, das in dem folgenden Abschnitt Material und Methoden angegeben ist, bestimmt werden.

Neben den vorgenannten zusätzlichen Enzym-Aktivitäten kann eine mikrobiell erzeugte Lipase-Zubereitung variierende kleinere Mengen an anderen Enzym-Aktivitäten enthalten, die auf inhärente Weise durch den fraglichen Erzeugerorganismus erzeugt werden.

5

Die in dem erfindungsgemäßen Verfahren zu verwendende Enzymzubereitung kann in jeder beliebigen Form sein, die für die fragliche Verwendung geeignet ist, z. B. in der Form eines trockenen Pulvers oder Granulats, insbesondere eines nichtstaubenden Granulats, einer Flüssigkeit, insbesondere einer stabilisierten 10 Flüssigkeit, oder eines geschützten Enzyms. Granulate können z. B. wie in US 4,106,991 und US 4,661,452 hergestellt werden, und können wahlweise durch im Stand der Technik bekannte Verfahren beschichtet werden. Flüssige Enzymzubereitungen können beispielsweise durch Zusetzen von ernährungsmäßig verträglichen Stabilisatoren wie einem Zucker, einem Zuckeralkohol oder einem anderen 15 Polyol, Milchsäure oder einer anderen organischen Säure gemäß anerkannten Verfahren stabilisiert werden. Geschützte Enzyme können gemäß dem in EP 238 216 offenbarten Verfahren hergestellt werden.

Üblicherweise ist es für die Aufnahme in Vormischungen oder Mehl vorteilhaft, 20 daß die Enzymzubereitung in der Form eines trockenen Erzeugnisses ist, z. B. eines nichtstaubenden Granulats, während sie für die Aufnahme zusammen mit einer Flüssigkeit vorteilhafterweise in einer flüssigen Form ist.

Wie vorstehend erwähnt, wird davon ausgegangen, daß die Lipase einen in situ- 25 Emulgator bildet und in einer Ausführungsform wird sie daher dafür vorgesehen, als ein Ersatzmittel für Emulgatoren zu dienen, die üblicherweise zur Verbesserung der Ausdehnungsfähigkeit von Teig verwendet werden und zu einem gewissen Ausmaß für die Verbesserung der Konsistenz von Brot (was das Aufschneiden leichter macht) sowie zur Verbesserung der Lagerungsstabilität des Brots.

30

Jedoch kann die Lipasezubereitung ebenfalls zusammen mit herkömmlichen Emulgatoren verwendet werden, um eine bessere verbesserte Wirkung zu erzielen, die nicht erzielt werden kann durch Verwendung von einem oder zwei Emulgatoren allein. Beispiele derartiger Emulgatoren sind Mono- oder Diglyceride, 5 z. B. DATEM und SSL, Diacetylweinsäureester von Mono- oder Diglyceriden, Zuckerester von Fettsäuren, Polyglycerinester von Fettsäuren, Milchsäureester von Monoglyceriden, Essigsäure- oder Zitronensäureester von Monoglyceriden, Polyoxyethylenstearate, Phospholipide und (für die Herstellung von Teig mit einem niedrigen Gehalt an Fett) Lecithin.

10

Die Enzymzubereitung kann als solche dem Gemisch, aus dem der Teig hergestellt wird, zugesetzt werden, oder sie kann alternativ dazu als ein Bestandteil eines Teigzusatzstoffes und/oder einer teigverbessernden Zusammensetzung zugesetzt werden. Der Teigzusatzstoff und/oder die teigverbessernde Zusammensetzung 15 können eine beliebige herkömmlich verwendete Zusammensetzung sein, z. B. eine, die eine oder mehrere der folgenden Bestandteile umfaßt:

Ein Milchpulver (stellt die Farbe der Kruste bereit), ein Emulgator (wie die vorstehend genannten), granuliertes Fett (zum Weichmachen des Teigs und für die 20 Konsistenz von Brot) und ein Oxidationsmittel (zugesetzt zum Verstärken der Struktur von Gluten; z. B. Ascorbinsäure, Kaliumbromat, Kaliumiodat oder Ammoniumpersulfat), eine Aminosäure (z. B. Cystein), ein Zucker, Salz (z. B. Natriumchlorid, Calciumacetat, Natriumsulfat oder Calciumsulfat, die dazu dienen, den Teig fester zu machen) und (zur Herstellung eines Teigs mit einem niedrigen Gehalt an Fett) Gluten (zum Verbessern des Gasrückhaltevermögens von schwachen 25 Mehlen).

Üblicherweise wird der Teigzusatzstoff und/oder die teigverbessernde Zusammensetzung in einer Menge zugesetzt, die ungefähr 1-5%, beispielsweise 1-3% 30 des zugesetzten Mehls entspricht.

Es wird vorgesehen, daß das erfindungsgemäße Verfahren bei der Verbesserung der Verarbeitungsfähigkeit jeder beliebigen Art von Teig nützlich ist. Natürlich ist die verbesserte Verarbeitungsfähigkeit besonders wichtig für Teigarten, die industriell zu verarbeiten sind, wobei ein Beispiel Teigarten sind, die zu extrudieren sind (z. B. für die Herstellung von Keksen oder Knäckebrotarten). Es wird davon ausgegangen, daß die Verwendung von Lipasen in derartigen Brotarten keinen Einfluß auf die Textur des resultierenden Erzeugnisses hat, was bedeutet, daß kein unerwünschtes Weichwerden von Erzeugnissen, die knusprig sein sollen, erhalten wird. Darüber hinaus denkt man, daß die Verwendung von Lipase keinen negativen Einfluß auf den Geschmack der resultierenden Backerzeugnisse hat, sondern es wird vielmehr erwartet, daß sie den Geschmack verbessert.

Wie es vorstehend angegeben wird, ist beabsichtigt, daß der Ausdruck "Backerzeugnis" jedes beliebige aus dem Teig hergestellte Erzeugnis einschließt. Das Backerzeugnis kann mit Hefe aufgehen gelassen worden sein oder chemisch aufgehen gelassen worden sein und kann von weichem oder knusprigem Charakter sein. Beispiele für Backerzeugnisse, ob von einem weißen, hellen oder dunklen Typ, die auf vorteilhafte Weise durch die vorliegende Erfindung hergestellt werden können, sind Brot, typischerweise in der Form von Brotlaiben oder Rollen, Brot von der Art des französischen Baguettes, Pitta-Brot, Tacos, Kuchen, Pfannenkuchen, Kekse, Knäckebrot und dergleichen.

Der Teig und/oder das Backerzeugnis, der/die durch das erfindungsgemäße Verfahren hergestellt werden, basieren üblicherweise auf Weizen-Grobmehl oder -Feinmehl, wahlweise in Kombination mit anderen Arten von Grobmehl ("meal") oder Feinmehl ("flour") wie Mais-Feinmehl, Roggen-Grobmehl, Roggen-Feinmehl, Hafer-Feinmehl oder -Grobmehl, Soja-Feinmehl oder Sorghum-Grobmehl oder -Feinmehl oder Kartoffel-Grobmehl oder -Feinmehl. Es wird jedoch vorgesehen, daß das erfindungsgemäße Verfahren auf gleich gute Weise bei der Herstellung von Teigen oder Backerzeugnissen funktionieren wird, die primär auf anderen Grobmehlen oder Feinmehlen basieren, wie Mais-Grobmehl oder -Feinmehl, Roggen-Grobmehl oder -Feinmehl oder beliebigen anderen

Roggen-Grobmehl oder -Feinmehl oder beliebigen anderen Arten, wie die vorstehend genannten Grobmehl- oder Feinmehl-Arten. [Sofern nicht anders angegeben bezieht sich der Ausdruck "Mehl" immer auf Feinmehl ("flour"); Anm. des Übersetzers.]

5

Wie vorstehend erwähnt, wird die Lipasezubereitung zu einem beliebigen Gemisch der Teigbestandteile des Teigs oder einem beliebigen der in den Teig auf zunehmenden Bestandteile zugesetzt; in anderen Worten, die Lipase-Zubereitung kann in jedem beliebigen Schritt der Teigherstellung zugesetzt werden und kann 10 in einem, zwei oder mehreren Schritten zugesetzt werden, wo dies zweckmäßig ist. Jedoch sollte die Lipase nicht zusammen mit irgendeiner starken Chemikalie zugesetzt werden oder unter Bedingungen, bei denen das Enzym inaktiviert wird.

Die Handhabung des Teigs und/oder das Backen wird auf jede für den fraglichen 15 Teig und/oder das fragliche Backerzeugnis geeignete Weise durchgeführt, was üblicherweise die Schritte des Knetens des Teigs, des Unterziehens des Teigs unter eine oder mehrere Garbehandlungen und das Backen des Erzeugnisses unter geeigneten Bedingungen umfaßt, d. h. bei einer geeigneten Temperatur und für eine ausreichende Zeitdauer. Beispielsweise kann der Teig durch Verwenden ei- 20 ner üblichen direkten Teigführung ("straight dough process"), einer Sauerteigführung, einer Übernachtteigführung ("overnight dough method"), einer Niedrigtemperatur- und Langzeit-Fermentationsführung, einer Gefrierteigführung ("frozen dough method"), der Chorleywood Bread-Führung und einer Vorteigführung ("Sponge and Dough process") hergestellt werden.

25

In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung einen Teig. Der Teig und das aus dem Teig hergestellte Backerzeugnis besitzen, wie vorstehend definiert, verbesserte Qualitäten im Vergleich mit Erzeugnissen, die nicht gemäß der Erfindung hergestellt worden sind. Das erfindungsgemäße Backerzeugnis und der 30 erfindungsgemäße Teig können von jedem beliebigen der vorstehend diskutierten Arten sein, und es ist bevorzugt, daß der Teig frisch oder gefroren ist.

Die Enzymzubereitung kann in der Form eines Teigzusatzstoffes und/oder einer brotverbessernden Zusammensetzung sein, die im wesentlichen frei von Vitalglutten oder Lecithin ist. Diese können auf der Grundlage von herkömmlichen Teigzusatzstoffen und/oder brotverbessernden Zusammensetzungen, die im Stand der Technik bekannt sind, unter Verwendung von im Stand der Technik bekannten Verfahren hergestellt werden. Spezifische Beispiele geeigneter Bestandteile für Teigzusatzstoffe und/oder teigverbessernde Zusammensetzungen sind vorstehend aufgeführt.

10

Die Vormischung der Erfindung kann im wesentlichen frei von zugesetztem Fett sein. Sie kann durch im Stand der Technik bekannte Verfahren auf der Grundlage von Bestandteilen von Vormischungen hergestellt werden, die im Stand der Technik bekannt sind, wie Feinmehl, Grobmehl, Teigzusatzstoffe, brotverbessernde Zusätze und dergleichen.

Demgemäß betrifft die vorliegende Offenbarung in einem weiteren wichtigen Aspekt die Verwendung einer Lipase in Kombination mit einer α -Amylase und/oder Xylanase als einen Teigzusatzstoff und/oder als ein brotverbesserndes Mittel für die Herstellung von Teig und/oder Backerzeugnissen, die im wesentlichen frei von zugesetztem Fett sind, oder höchstens 3,5 Gew.-% zugesetztes Fett, bezogen auf die Mehlkomponente bzw. die Mehlkomponenten des Teigs, umfassen.

Wenn der Teig zugesetztes Fett enthält, ist es bevorzugt, daß die Menge an zugesetztem Fett höchstens 3 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten des Teigs bildet, wie höchstens 2,8 oder 2,5 Gew.-%, stärker bevorzugt höchstens 2 Gew.-%, bezogen auf die Mehlkomponente bzw. die Mehlkomponenten des Teigs, wie höchstens 1,5 Gew.-%, bezogen auf die Mehlkomponente bzw. die Mehlkomponenten des Teigs, insbesondere höchstens 1,0 Gew.-% und am stärksten bevorzugt höchstens 0,5 Gew.-%, bezogen auf die Mehlkomponente bzw. die Mehlkomponenten des Teigs.

Die vorliegende Erfindung wird in dem folgenden Beispiel weiter veranschaulicht, wobei dieses nicht auf irgendeine Weise in Betracht gezogen wird, den Umfang der hierin definierten Erfindung zu beschränken.

5

MATERIAL UND METHODEN

Enzyme

10 **Lipase A:** Die Lipase von *Humicola lanuginosa*, die in EP 305 216 beschrieben wurde und durch rekombinante DNA-Verfahren in *Aspergillus oryzae*, wie in EP 305 216 beschrieben, erzeugt wurde.

15 **Lipase B-I:** Die Lipase aus *Rhizomucor miehei*, die von Boel *et al.*, 1988 beschrieben wurde und durch rekombinante DNA-Verfahren in *A. oryzae*, wie von Huge-Jensen *et al.*, 1989 und in EP 228 023 beschrieben, erzeugt wurde.

Die Aktivitätsprofile der vorstehend erwähnten Lipaseenzyme gehen aus der nachfolgenden Tabelle 1 hervor.

20

Xylanase: Eine Xylanase, die durch den *Humicola insolens*-Stamm DSM 1800 erzeugt wurde, der von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH erhältlich ist und weiter in EP 507 723 beschrieben wird.

25

Fungamyl: Eine im Handel erhältliche pilzliche α -Amylase-Zubereitung, die von Novo Nordisk A/S erhältlich ist.

Tabelle 1

Lipase	LU/g	FAU/g
Lipase A	4.452.000	<0,6

Lipase B-I	12.200	9
------------	--------	---

LU/g (Lipase Units/g; Lipase-Einheiten/g) und FAU/g (Fungal Alpha-Amylase Units/g; pilzliche α -Amylase-Einheiten/g) wurden durch die folgenden Assays bestimmt:

5

LU – Lipase Units

Die Lipase-Aktivität wurde unter Verwendung von Glycerintributyryl als ein Substrat und Gummi arabicum als ein Emulgator durch einen Assay erfolgt. 1 LU (Lipase Unit) ist die Menge an Enzym, die 1 μ mol titrierbare Buttersäure pro Minute bei 30°C, pH 7,0, freisetzt. Die Lipase-Aktivität wurde einem Assay unterzogen bei einem pH-stat-Verfahren unter Verwendung des Radiometer Tritator VIT90, Radiometer, Kopenhagen. Weitere Details des Assays werden in dem Novo Analytical Method AF 95/5 angegeben, das auf Nachfrage erhältlich ist.

15

FAU – Fungal alpha-Amylase Units

1 FA Unit (FAU; FA-Einheit) ist die Menge an Enzym, die bei 37°C und pH 4,7 5260 mg feste Stärke pro Stunde abbaut. Weitere Details des Assays werden in 20 dem Novo Analytical Method AF 9.1/3 angegeben, das auf Nachfrage erhältlich ist.

FXU – Xylanase-Aktivität

25 Die Endoxylanase-Aktivität wird durch einen Assay bestimmt, in dem die Xylanaseprobe mit einem Remazol-Xylan-Substrat (4-O-Methyl-D-glucuron-D-xylan, gefärbt mit Remazol Brilliant Blue R, Fluka), pH 6,0, inkubiert wird. Die Inkubation wird bei 50°C für 30 Min. durchgeführt. Der Hintergrund an nichtabgebautem gefärbtem Substrat wird durch Ethanol präzipitiert. Die im Überstand verblei-

bende blaue Farbe in dem Überstand wird photospektrometrisch bei 585 nm bestimmt und ist der Endoxylanase-Aktivität proportional.

Die Endoxylanase-Aktivität der Probe wird relativ zu einem Enzymstandard bestimmt.

Der Assay wird weiter in der Publikation AF 293.6/1-GB beschrieben, der auf Nachfrage von Novo Nordisk A/S, Dänemark, erhältlich ist.

10 Herstellung von Brot

In Beispiel 1 (Vergleichsbeispiel) wurde weißes Brot aus dem folgenden Grundrezept hergestellt:

15 Grundrezept

Weizenmehl ("wheat flour")	1 kg	100%
Kaltes Leitungswasser	550 ml	55%
Frische Hefe	50 g	5%
20 Salz	20 g	2%
Margarine	60 g	6%

Das Weizenmehl war von der "Manitoba" genannten Art, die von "Valsemøllerne", Dänemark, August 1991, geliefert wurde. Die Hefe war herkömmliche Hefe, die aus der "De Danske Spritfabrikker" (Danisco), Dänemark, erhalten wurde.

Das kalte Wasser wurde einem Gemisch der trockenen Bestandteile zugesetzt. Das resultierende Gemisch wurde für 3 Minuten bei 110 Upm und anschließend 8 Minuten bei 260 Upm unter Verwendung eines Spiralmischers gemischt, d. h. 30 einem Bear (Bjørn)-Varimischers. Der resultierende Teig wurde in Teile von 350 g geteilt und man ließ ihn anschließend für 30 Minuten beim Raumtemperatur gehen und unterzog ihn anschließend einer zweiten Gare ("proofing") in einer

Garkammer ("proofing cabinet") bei 35°C und 70 RL (relative Luftfeuchte) für 50 Minuten. Das Backen wurde in Dosen bei 225°C für 30 Minuten durchgeführt.

In den Beispielen 2-4 wurde das folgende Grundrezept und -verfahren eingesetzt:

5

Grundrezept

	Mehl ("flour"; Manitoba)	100 %
	Salz	1,5 %
10	Hefe	5,0 %
	Zucker	1,5 %
	Wasser	54 %

Verfahren

15 1. Teig mischen (Spiralmischer)
2 Min. bei 700 Upm
7 Min. bei 1400 Upm

20 Die Mischzeit wurde bestimmt und durch einen erfahrenen Bäcker eingestellt, um auf diese Weise eine optimale Teigkonsistenz unter den verwendeten Testbedingungen zu erhalten.

25 2. Erste Gare: 30°C – 80% RL, 16 Min.

3. Skalieren und Formen;

25 4. Letzte Gare: 32°C – 80% RL, 40 Min.

5. Backen: 225°C, 20 Min. für Rollen und 30 Min. für Brotlaibe.

30

Beurteilung von Teig und Backerzeugnissen

Der Teig und die Backerzeugnisse, die in Beispiel 1 beschrieben wurden, wurden visuell beurteilt. Das Volumen der Backerzeugnisse wurde, wie nachfolgend weiter beschrieben, bestimmt.

5 Die Eigenschaften des Teiges und der Backerzeugnisse, die in den Beispielen 2-4 beschrieben wurden, wurden wie folgt bestimmt:

10 **Spezifisches Volumen der Rollen:** Das Volumen von 20 Rollen wurde unter Verwendung des herkömmlichen Rapssamenverfahrens gemessen. Das spezifische Volumen wird als Volumen in ml pro g Brot berechnet. Das spezifische Volumen der Kontrolle (ohne Enzym) wird als 100 definiert. Der relative spezifische Volumen-Index wird berechnet als:

$$15 \text{ Spezifischer Volumen-Index} = \frac{\text{Spezifisches Volumen von 20 Rollen}}{\text{Spezifisches Volumen von 20 Kontrollrollen}} * 100$$

20 **Spezifisches Volumen der Brotlaibe:** Der Mittelwert des Volumens von 4 Brotlaiben wurde gemessen unter Verwendung der gleichen Verfahren wie vorstehend beschrieben.

25 Die Klebrigkeit des Teigs und die Krumenstruktur wurden gemäß der nachfolgenden Einteilung visuell bewertet.

25

Klebrigkeit des Teigs:	fast flüssig	1
	zu klebrig	2
	klebrig	3
	normal	4
30	trocken	5

30

Krumenstruktur:	sehr schlecht	1
	schlecht	2
	nicht einheitlich	3
35	einheitlich/gut	4
	sehr gut	5

Die Weichheit der Brotkrume wird durch ein SMS-Textur-Analysiergerät gemessen. Ein Kolben mit einem Durchmesser von 45 mm wird auf die Mitte einer 20 mm dicken Brotscheibe gepreßt. Die Kraft, die benötigt wird, damit der Kolben die Krume 5 mm mit einer Geschwindigkeit von 2.0 mm/s herunterdrückt, wird aufgezeichnet und wird als die Krumenfestigkeit ausgedrückt. Je geringer der Wert ist, desto weicher ist die Krume. Vier Scheiben jedes Brots werden gemessen und der Mittelwert wird verwendet.

10

BEISPIELE

BEISPIEL 1 (Vergleichsbeispiel)

15 Weißbrot, das 6% zugesetztes Fett enthält, wurde auf Grundlage des vorangehend beschriebenen Standardverfahrens hergestellt und die in Tabelle 2 gezeigten Ergebnisse wurden erhalten:

Tabelle 2

Lipase	Lipase B-I			
Dosierung				
LU/kg Mehl	10	100	1000	
g/100 kg	0,1	1	10	
FAU/100 kg	1	10	100	
Volumen* (%)	101	105	111	
Weichheit*				
Tag 1	+	++	+++	
Tag 2	0	0	+	
Wirkung auf den Teig	etwas Erweichen			

20 * = relativ zu einer Referenzprobe ohne zugesetzte Lipase.

"0" bedeutet, daß die Krume ähnlich der der Kontrolle ist, + bedeutet, daß die Krume ein wenig weicher ist, ++ bedeutet, daß die Krume weicher ist und +++ bedeutet, daß das Brot beträchtlich weicher ist als die Kontrolle.

5 Es ist offensichtlich, daß die Verwendung einer mikrobiellen Lipase bei der Herstellung des Teigs und des Backerzeugnisses eine positive Wirkung auf die Weichheit des Teigs sowie auf die Krumenstruktur und das Volumen des Backerzeugnisses hat.

10 BEISPIEL 2 (Vergleichsbeispiel)

Das eingesetzte Enzym war die Lipase A, d. h. eine rekombinante Lipase aus *H. lanuginosa*. Das Enzym wurde entweder direkt in die Mischung der Backbestandteile gegeben oder es wurde in Wasser dispergiert, bevor es in die Mischung 15 gegeben wurde. Sämtliche Tests wurden im Doppel durchgeführt und die Ergebnisse waren ähnlich. Die folgenden Ergebnisse wurden erhalten:

Tabelle 3

Lipase A	1	2	3	4	5	6	7	8
LU/kg Mehl	250	500	1000	1500	10000	20000	50000	0
Teigklebrigkeit	Mit sämtlichen Teigern konnte man gut arbeiten.							
Index des spezifischen Brotchenvolumens	119	124	122	122	113	111	103	100
Index des spezifischen Brotlaibvolumens	111	112	118	112	111	108	104	100
Krumenstruktur	3,5	3	3,5	3,5	4	4	4	4
Weichheit/0	349	314	244	318	334	403	411	595
Weichheit/24 h	705	541	559	627	606	656	735	1040
Weichheit 96 h	988	1088	1049	1252	1091	1224	1261	1754

Es ist aus den vorangehenden Ergebnissen ersichtlich, daß das Zusetzen von Lipase das Volumen der Brötchen und Brotlaibe erhöht und die Krumenstruktur und die Krumenweichheit während der Lagerung verbessert. Darüber hinaus ist festgestellt worden, daß die Lipase eine signifikante Wirkung auf die Weißheit der Krume besitzt.

BEISPIEL 3

Um zu beurteilen, ob die Lipase auf vorteilhafte Weise in Kombination mit anderen Enzymen verwendet werden könnte, wurden Backtests durchgeführt mit Lipase A in Kombination mit α -Amylase. Die verwendete α -Amylase war Fungamyl®.

Die Ergebnisse, die bei der Verwendung von Lipase A in Kombination mit Fungamyl® erhalten wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle 4 angegeben.

Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß Brot, das mit Lipase A in Kombination mit α -Amylase hergestellt wurde, ein größeres Volumen und eine bessere Krumenstruktur besitzt, als Brot, das mit einem der Enzyme allein hergestellt wurde. Darüber hinaus setzt das Zusetzen von Lipase die Klebrigkeits des Teigs herab, die normalerweise festgestellt wird, wenn eine pilzliche α -Amylase allein für das Backen verwendet wird.

Tabelle 4

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lipase U/LU pro kg Mchl	0	250	500	1000	1500	0	250	500	1000	1500
Fungamyl/FAU pro kg Mehl	0	50	50	50	50	50	0	0	0	0
Klebrigkeitsindex des Teigs	4	3	3,5	4	4	3	4	4	4	4
Index des spezifischen Brötchenvolumens	100	134	142	138	143	111	119	124	122	122
Index des spezifischen Brotlaibvolumens	100	119	123	128	127	110	111	112	118	112
Krumenstruktur	3	4,5	4,5	5	5	4	3,5	3	3,5	3,5
Weichheit/0	398	264	263	300	275	265	356	446	308	293
Weichheit/24 h	1076	464	557	493	482	532	864	879	659	628
Weichheit/72 h	1727	1093	1002	806	1055	1214	1251	1301	1001	946

BEISPIEL 4

Es ist bekannt, daß Pentosanasen wie eine Xylanase eine gute Backwirkung besitzen. Es ist aber auch allgemein bekannt, daß eine Pentosanase eine Klebrigkei

5 des Teigs verursachen kann. Es wurde aus diesem Grund getestet, ob eine Lipase eingesetzt werden kann, um die erhöhte Klebrigkei des Teigs, die durch die Pen-

tosanase Xylanase, wenn diese allein verwendet wird, verursacht wird, zu vermei-

den oder herabzusetzen. Genauer gesagt, wurden Backtests durchgeführt (durch

10 Einsatz des vorgenannten allgemeinen Verfahrens) mit Lipase A in Kombination mit einer Xylanase von *H. insolens*. Die Ergebnisse, die durch Verwendung von Lipase A in Kombination mit der Xylanase erhalten wurden, sind in der nachfol-

genden Tabelle 5 angegeben.

Aus Tabelle 5 ist offensichtlich, daß die Klebrigkei, die durch eine Xylanase ver-

15 ursacht wird, herabgesetzt wird oder verschwindet, wenn dieses Enzym in Kom- bination mit Lipase verwendet wird. Darüber hinaus stellt die Kombination von Lipase mit Xylanase ein größeres Volumen, eine bessere Krumenstruktur und geringeres Altbackenwerden der Krume bereit, als wenn eine Lipase oder eine Xylanase allein verwendet wird.

Tabelle 5

	1	2	3	4	5	6	7
Lipase U/LU pro kg Mehl	0	250	500	1000	1500	0	0
Xylanase/FXU pro kg Mehl	0	43	43	43	43	43	70
Klebrigkeit des Teigs	4	3,5	4	4	4	2,5	2,5
Index des spezifischen Brötchenvolumens	100	136	143	134	140	120	127
Index des spezifischen Brotlaibvolumens	100	116	122	119	119	108	118
Krumenstruktur	3	5	5	5	5	4	4,5
Weichheit/0	532	314	294	288	275	330	283
Weichheit/24 h	1095	623	635	571	575	734	567
Weichheit/72 h	1843	918	893	950	966	1370	1022

DRUCKSCHRIFTEN, DIE IN DER PATENTSCHRIFT ZITIERT WERDEN

Bekes *et al.*, Journal of Cereal Science 16, S. 129-140, 1992

5 Boel *et al.*, 1988, Lipids, Band 23, Nr. 7

Bushyk *et al.*, "Carbohydrate and Lipid Complexes with Gliadin and Glutenin" in
Gluten Proteins, Hrsg. W. Bushyk, American Association of Cereal Chemists,
Minneapolis, 1990

10

Gams, 1976, Getreide Mehl und Brot, Technologische Zeitschrift für Getreide,
Mehl, Brot, Backwaren, 30. Jahrgang, Heft 5, S. 113-116

Huge-Jensen *et al.*, 1989, Lipids, Band 24, Nr. 9

15

Weegels, P.L. und Hamer, R.J., Cereal Foods World 1992, Band 37, Nr. 5, S. 379-
385.

DE 693 30 066.3-08 (EP-B-0659049)
Novozymes A/S

31. Mai 2001
N32709EPDE DO/HW/bp

Patentansprüche

5

1. Verfahren zur Herstellung eines Teigs und/oder eines aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses, umfassend das Zusetzen zu dem Teig und/oder einem beliebigen Bestandteil des Teigs und/oder einem beliebigen Gemisch der Teigbestandteile
 - 10 (a) einer Lipase, die aus *Humicola* stammt, in einer Menge, die einer Lipaseaktivität von 10-50.000 LU/kg Mehl entspricht, und
 - (b) einer α -Amylase und/oder einer Xylanase.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Lipase aus *Humicola lanuginosa* stammt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die α -Amylase aus *Aspergillus*, stärker bevorzugt aus *A. oryzae*, stammt.
- 20 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-3, wobei die Xylanase aus *Humicola*, stärker bevorzugt aus *H. insolens*, stammt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, wobei die Lipase in einer Menge zugesetzt wird, die einer Lipaseaktivität von 10-3.000 LU/kg Mehl entspricht, vorzugsweise 10-2.500 LU/kg Mehl, stärker bevorzugt 10-2.100 LU/kg Mehl, und sogar noch stärker bevorzugt 10-2.000 LU/kg Mehl, und am stärksten bevorzugt 250-2.100 LU/kg Mehl.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-5, wobei die α -Amylase in einer Menge von 5-500 FAU/kg Mehl zugesetzt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-6, wobei die Xylanase in einer Menge von 5-5.000 FXU/kg Mehl zugesetzt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-7, wobei der Teig höchstens 3,5% zugesetztes Fett, bezogen auf das Gewicht der Mehlkomponente bzw. der Mehlkomponenten des Teigs, umfaßt.
9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei der Teig im wesentlichen frei von zugesetztem Fett ist.
10. Teig oder Vormischung für einen Teig, umfassend Mehl, eine Lipase, die aus *Humicola* stammt, in einer Menge entsprechend einer Lipaseaktivität von 10-50.000 LU/kg Mehl, und eine α -Amylase und/oder Xylanase.
11. Verwendung einer Enzymzubereitung, die eine Lipase, die aus *Humicola* stammt, und eine α -Amylase und/oder Xylanase umfaßt, in einem Verfahren zur Herstellung eines Teiges und/oder eines aus dem Teig hergestellten Backerzeugnisses, wobei die Lipase in einer Menge zugesetzt wird, die einer Lipaseaktivität von 10-50.000 LU/kg Mehl entspricht.
12. Verwendung nach Anspruch 11, wobei die Lipase aus *Humicola lanuginosa* stammt.
13. Verwendung nach Anspruch 11 oder 12, wobei die α -Amylase aus *Aspergillus*, stärker bevorzugt aus *A. oryzae*, stammt.
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 11-13, wobei die Xylanase aus *Humicola*, stärker bevorzugt aus *H. insolens*, stammt.

15. Verwendung nach einem der Ansprüche 11-14, wobei die Enzymzubereitung in der Form eines nicht-staubenen Granulates oder einer stabilisierten Flüssigkeit ist.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.